

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP04/019360

International filing date: 24 December 2004 (24.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP  
Number: 2004-341343  
Filing date: 26 November 2004 (26.11.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 03 March 2005 (03.03.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

11.01.2005

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日            2 0 0 4 年 1 1 月 2 6 日  
Date of Application:

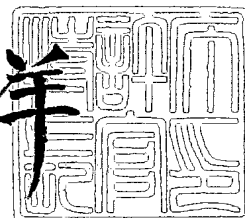
出 願 番 号            特 願 2 0 0 4 - 3 4 1 3 4 3  
Application Number:  
[ST. 10/C]:            [ J P 2 0 0 4 - 3 4 1 3 4 3 ]

出      願      人            不 二 製 油 株 式 会 社  
Applicant(s):

2 0 0 5 年    2 月 1 7 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小 川 洋



【書類名】 特許願  
【整理番号】 PY14131MM  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【国際特許分類】 A61K 31/00  
【発明者】  
    【住所又は居所】 茨城県筑波郡谷和原村絹の台 4 丁目 3 番地 不二製油株式会社  
    つくば研究開発センター内  
    【氏名】 有島 俊治  
【発明者】  
    【住所又は居所】 大阪府泉佐野市住吉町 1 番地 不二製油株式会社 阪南事業所内  
    【氏名】 橘 伸彦  
【特許出願人】  
    【識別番号】 000236768  
    【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区西心斎橋 2 丁目 1 番 5 号  
    【氏名又は名称】 不二製油株式会社  
    【代表者】 浅原 和人  
    【電話番号】 0724-63-1564  
【先の出願に基づく優先権主張】  
    【出願番号】 特願2004- 8643  
    【出願日】 平成16年 1月16日  
【手数料の表示】  
    【予納台帳番号】 029377  
    【納付金額】 16,000円  
【提出物件の目録】  
    【物件名】 特許請求の範囲 1  
    【物件名】 明細書 1  
    【物件名】 要約書 1

**【書類名】 特許請求の範囲****【請求項 1】**

S L S 型トリアシルグリセロール（S は炭素数 2 ～ 6 の短鎖脂肪酸、L は炭素数 1 6 ～ 2 2 の長鎖脂肪酸より構成される対称型トリアシルグリセロール）を有効成分とするリパーゼ阻害剤。

**【請求項 2】**

請求項 1 記載の S L S 型トリアシルグリセロールを有効成分とする脂質吸収阻害剤。

**【請求項 3】**

請求項 1 記載の S L S 型トリアシルグリセロールを有効成分とする抗肥満剤。

**【請求項 4】**

請求項 1 記載の S L S 型トリアシルグリセロールを有効成分とする高脂血症改善剤。

**【請求項 5】**

請求項 1 乃至請求項 4 何れか 1 項記載の剤を含有する食品。

**【請求項 6】**

請求項 1 乃至請求項 4 何れか 1 項記載の剤を含有する医薬。

【書類名】 明細書

【発明の名称】 リパーゼ阻害剤

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、リパーゼ阻害剤及びそれを含有する食品に関する。さらに詳しくは、生体内での脂質の消化吸收をにない、肥満症、高脂血症の鍵となる膵臓リパーゼを有効に阻害してこれらの疾病の抑制や予防に寄与し得る安全性の高い油溶性のリパーゼ阻害剤に関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

近年、食事からの脂肪摂取の過剰による肥満と糖尿病・高脂血症・循環器疾患といった生活習慣病の関係が取り上げられ、問題とされている。これを改善する方法として、1. 食品中の油脂含量の低下、2. 油脂そのものの低カロリー化、3. 油脂代替物での置換、4. 代謝の促進、5. リパーゼ阻害剤などが提案されている。5. のリパーゼ阻害剤については、脂肪の膵臓リパーゼによる分解を阻害して肥満を抑制、予防する薬剤の開発が試みられている。

例えば、特許文献1では、紅景天、イワベンケイ、サボンソウ、ボルド、パスチャカ、トルメンチラ、エルカンプリ、ウコンイソマツ、チュチュウアシ、キャツクロー、シナモン、山椒、センダングサ、ウコギ、ストロベリー、モージェ、バラ、柿、セイヨウオトギリソウ、杜仲及び白茶からなる植物の群より選ばれる少なくとも1種を含有するリパーゼ阻害剤が提案されている。

【0 0 0 3】

また、特許文献2では、ユッカ、高麗人參、ジャスミン茶、山査子、黄杞茶、ルイボス茶、大豆胚芽、生姜、および杜仲茶よりなる群から選択される少なくとも1種以上の素材からの抽出エキスを有効成分とするリパーゼ阻害剤が提案されている。

しかしながら、抽出物が殆ど水溶性のものであり油脂に混ぜることが出来なかったり、喫食時に服用させるしか方法がなく煩雑であったり、また抽出物の効果が不充分であったりしてその殆どが市場に出ていない。

一方、油脂に溶解できる油溶性の物質としては、特許文献3において、テトラヒドロリプスタチンを胃腸リパーゼ阻害剤として使用することが提案されている。この阻害剤はリパーゼそのものと直接共有結合して失活させるといわれており、その効果はかなり強力の一部には下痢症状も観られ、食品としては安全性の面での懸念が残り、よりマイルドに効果を発揮するような油溶性のリパーゼ阻害剤が望まれている。

【0 0 0 4】

【特許文献1】 特開 2 0 0 2 - 1 7 9 5 8 6 号公報

【特許文献2】 特開 2 0 0 2 - 2 7 5 0 7 7 号公報

【特許文献3】 米国特許第 4 5 9 8 0 8 9 号明細書

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0 0 0 5】

本発明の目的は、脂肪の過剰摂取による肥満や肥満が原因で発生する疾病の予防や治療に寄与し得て、且つあらゆる油脂に添加し得る油溶性のリパーゼ阻害剤を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0 0 0 6】

本発明者らは、上記の問題を解決するため鋭意研究をおこなった結果、グリセロールの1, 3 位が短鎖の脂肪酸、2 位が長鎖の脂肪酸より構成される対称型トリアシルグリセロールが膵臓リパーゼの活性を阻害することを発見し、この対称型トリアシルグリセロールをベース油脂中に少量含むことにより油脂全体の分解速度が緩和されることを見出したのである。

即ち本発明の第1は、SLS型トリアシルグリセロール（Sは炭素数2～6の短鎖脂肪酸、Lは炭素数16～22の長鎖脂肪酸より構成される対称型トリアシルグリセロール）を有効成分とするリパーゼ阻害剤である。第2は、第1記載のSLS型トリアシルグリセロールを有効成分とする脂質吸収阻害剤である。第3は、第1記載のSLS型トリアシルグリセロールを有効成分とする抗肥満剤である。第4は、第1記載のSLS型トリアシルグリセロールを有効成分とする高脂血症改善剤である。第5は、第1乃至第4何れか1に記載の剤を含有する食品である。第6は、第1乃至第4何れか1に記載の剤を含有する医薬である。

【発明の効果】

【0007】

本発明のSLS型トリアシルグリセロールはリパーゼ活性を緩やかに阻害し、かつ油溶性でありあらゆる油脂に添加でき、脂肪の過剰摂取による肥満や肥満が原因で発生する疾病の予防や治療に有効である。

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

本発明における、リパーゼによる加水分解を遅延させる油溶性物質SLS型トリアシルグリセロールは、そのグリセロールの1, 3位に結合する脂肪酸が炭素数2の酢酸から炭素数6のカプロン酸までのものであり好ましくは炭素数2の酢酸であり、2位が炭素数16のパルミチン酸、パルミトオレイン酸から炭素数22のベヘン酸、あるいはエルシン酸までの脂肪酸で構成されるもので、長鎖脂肪酸は飽和酸・不飽和酸の何れでも良いがモノ不飽和脂肪酸が好ましい。一部例をあげると2P2（1, 3位が酢酸、2位がパルミチン酸よりなるトリアシルグリセロール）、2O2（1, 3位が酢酸、2位がオレイン酸よりなるトリアシルグリセロール）、2Li2（1, 3位が酢酸、2位がリノール酸よりなるトリアシルグリセロール）、2S2（1, 3位が酢酸、2位がステアリン酸よりなるトリアシルグリセロール）、2A2（1, 3位が酢酸、2位がアラキジン酸よりなるトリアシルグリセロール）、2B2（1, 3位が酢酸、2位がベヘン酸よりなるトリアシルグリセロール）、2E2（1, 3位が酢酸、2位がエルシン酸よりなるトリアシルグリセロール）、4P4（1, 3位が酪酸、2位がパルミチン酸よりなるトリアシルグリセロール）、4O4（1, 3位が酪酸、2位がオレイン酸よりなるトリアシルグリセロール）、4S4（1, 3位が酪酸、2位がステアリン酸よりなるトリアシルグリセロール）、4A4（1, 3位が酪酸、2位がアラキジン酸よりなるトリアシルグリセロール）、4B4（1, 3位が酪酸、2位がベヘン酸よりなるトリアシルグリセロール）、4E4（1, 3位が酪酸、2位がエルシン酸よりなるトリアシルグリセロール）、6P6（1, 3位がカプロン酸、2位がパルミチン酸よりなるトリアシルグリセロール）、6O6（1, 3位がカプロン酸、2位がオレイン酸よりなるトリアシルグリセロール）、6S6（1, 3位がカプロン酸、2位がステアリン酸よりなるトリアシルグリセロール）、6A6（1, 3位がカプロン酸、2位がアラキジン酸よりなるトリアシルグリセロール）、6B6（1, 3位がカプロン酸、2位がベヘン酸よりなるトリアシルグリセロール）、6E6（1, 3位がカプロン酸、2位がエルシン酸よりなるトリアシルグリセロール）、2P4（1位が酢酸、2位がパルミチン酸、3位が酪酸よりなるトリアシルグリセロール）、2O6（1位が酪酸、2位がオレイン酸、3位がカプロン酸よりなるトリアシルグリセロール）、4S6（1位が酪酸、2位がステアリン酸、3位がカプロン酸よりなるトリアシルグリセロール）などが例示でき、これらの中では2O2（1, 3位が酢酸、2位がオレイン酸よりなるトリアシルグリセロール）が好ましい。

【0009】

このSLS型の油脂は1, 3位が短鎖脂肪酸であるため、リパーゼによる加水分解を受け難い性質を有し、このSLS型トリアシルグリセロールを油脂中に0.5～35重量%、好ましくは0.5～20重量%、更に好ましくは1～10重量%含むことで、油脂に対するリパーゼによる加水分解が緩和・遅延されるというものである。

油脂に対するリパーゼ阻害剤による加水分解の緩和・遅延程度としては、マイルドな阻

害効果が好ましく、具体的には摂取油脂の1～3割程度、好ましくは1～2割程度が分解されにくい状態を理想とする。

このSLS型トリアシルグリセロールの油脂中に含む量が下限未満の場合は、期待する効果が得にくくなり、上限を超える場合は、風味が悪くなり、効果が強くなりすぎる。

#### 【0010】

本発明のSLS型トリアシルグリセロールは、一般的には動物・植物・魚由来の油脂と短鎖脂肪酸あるいはその低級アルコールエステル類、例えばエチルエステル類とを任意の配合で混合した後、1, 3位特異性のあるリパーゼを使用して公知の方法でエステル交換させることで得られる。植物油脂としては例えば、大豆油、菜種油、パーム油、綿実油、ヒマワリ油、コーン油、キャノーラ油などが挙げられ、動物油脂としては牛脂、豚脂、魚油などが挙げられる。また、非選択的エステル交換、例えばナトリウムメチラートなどのアルカリ系触媒を用いてつくことも可能ではあるが、位置異性体であるSSL型トリアシルグリセロールがSLS型トリアシルグリセロールの倍量できるため、効果が薄くなりあまり実用的ではない。かくして得られたSLS型トリアシルグリセロールはその後、蒸留・分別及び要すれば硬化などの通常の加工処理を施し、例えば70%以上の純度品を得ることが出来る。

#### 【0011】

本発明のSLS型トリアシルグリセロールはそのまま使用してもよいし、また任意に他の油脂と混合して使用してもよい。混合される比率は期待する効果や使用する系によって異なるが、混合される油脂は食用の動・植物油脂であればなんら制限はない。

#### 【0012】

本発明のSLS型トリアシルグリセロールは、通常油脂を含有する食品に広く使用することができる。例えばクリーム・マーガリン・マヨネーズ・ドレッシング・乳製品といった乳化食品、チョコレートに代表される菓子類、パン類、ハム・ソーセージ等の食肉加工品、かまぼこ・ちくわ等の水産加工食品などに添加して風味・食感を損なうことなく使用できる。SLS型トリアシルグリセロール中の短鎖脂肪酸が高温での安定性においてやや弱い、調理用やフライ用にももちろん使用は可能である。また、油脂を含まなくても上記食品と同時に摂取するような水、果汁、牛乳、お茶、清涼飲料に添加して使用することもできる。

#### 【0013】

本発明のリパーゼ阻害剤、脂質吸収阻害剤、抗肥満剤、高脂血症改善剤及びこれらを含有する医薬の投与方法は、経口投与または非経口投与のどちらでよい。投与に際しては、有効成分を経口投与、直腸内投与、注射などの投与方法に適した固体または液体の医薬用担体と混合して、製剤の形態で投与することができる。

#### 【実施例】

#### 【0014】

以下に本発明の実施例を示し本発明をより詳細に説明するが、本発明の精神は以下の実施例に限定されるものではない。なお、例中、%及び部は、いずれも重量基準を意味する。

#### 【0015】

##### 製造例1

沃素価84のハイオレイックヒマワリ油50部と純度99.5%の酢酸エチル50部を混合し、1, 3位特異性のリパーゼ (Novozymes, Lipzyme RM-IM) を用いてエステル交換を行うことにより、反応油を得、220℃での蒸留によりエステル類を除去した後、さらに昇温して250℃で純度83%の202画分10部を得た。

#### 【0016】

##### 薬理試験1

この得られた202画分を大豆油中1部(202純度約0.8%)、5部(202純度約4.2%)、10部(202純度約8.3%)、50部(202純度約41.5%)それぞれ置換した系や202画分そのもの(202純度83%)の系で、以下のリパーゼ活性測定

を行った。各油脂 80mg をサンプリングし、ホスファチジルコリン (Sigma社) 80mg、タウロコール酸Na (和光純薬工業) 5mg、0.1M NaCl を含む 0.1M TES 緩衝液 9ml (PH 7) を各加えた後、超音波発振子で 1 分間乳化したものを基質した。基質 300  $\mu$ l を採取し、ブタ臍臓リパーゼ (Sigma社) を 5  $\mu$ l (5U) 加え、37℃ で 1 時間反応後、3ml の抽出溶媒 (クロロホルム/ヘプタン/メタノール = 49部/49部/2部で混合したもの) を加え良く攪拌した後、2500 rpm で 5 分間遠心分離を行い、上層を除去し、下層に銅試薬 (トリエタノールアミン 2.98g、硝酸銅 2.42g、NaOH 0.48g を水 200ml に溶解し、さらに NaCl を 66g 加えたもの) を 1ml 加え、10 分間攪拌し、2500 rpm で 10 分遠心分離し、上層 1.5ml を採取し、発色試薬 (バソクプロイン 0.2g、ブチルヒドロキシアニソール 0.1g をクロロホルム 200ml に溶解したもの) 1.5ml を加えて遊離した脂肪酸を OD480 の吸光度にて定量した。表 1 に大豆油そのものの系に対する相対活性を示した。表 1 に示されるように 202 で 1 部を置換した系で約 20%、5 部を置換した系で約 35% 活性が阻害されることが判明した。

#### 【0017】

##### 比較製造例 1

純度 98% のトリアセチン 50 部と純度 98% のオレイン酸エチル 50 部を混合し、1, 3 位特異性のリパーゼ (Novozymes Lipozyme RM-IM) を用いてエステル交換を行うことにより、反応油を得、220℃での蒸留によりエステル類を除去した後、さらに昇温して 250℃で純度 82% の 220 画分 50 部を得た。

#### 【0018】

##### 比較薬理試験 1

この得られた 220 画分を大豆油中 1 部 (220 純度約 0.8%)、5 部 (220 純度約 4.1%)、10 部 (220 純度約 8.2%)、50 部 (220 純度約 41%) それぞれ置換した系、及び 220 画分そのものの系 (220 純度 82%) で先述の試験例と同様のリパーゼ活性測定を行った。表 1 に示されるように 220 の置換量に関係なく、リパーゼの加水分解抑制の効果は無いと判断された。

#### 【0019】

##### 比較製造例 2

沃素価 84 のハイオレイックヒマワリ油 55 部と純度 98% のトリアセチン 45 部を混合してソディウムメチラートをを用いたランダムエステル交換を行い、中和・水洗後、約 60 部の反応油を得た。この反応油を 250℃で蒸留して純度 87% の 220/202 混合画分 (220 純度約 57%、202 純度約 30%) を 42 部得た。

#### 【0020】

##### 比較薬理試験 2

この得られた 220/202 混合画分を大豆油中 1 部 (220 純度約 0.6%、202 純度約 0.3%)、5 部 (220 純度約 2.9%、202 純度約 1.5%)、10 部 (220 純度約 5.7%、202 純度約 3.0%)、50 部 (220 純度約 28.5%、202 純度約 15%) それぞれ置換した系、及び 220/202 混合画分そのものの系 (220 純度 57%、202 純度 30%) で先述の試験例と同様のリパーゼ活性測定を行った。表 1 に示されるように、220/202 の置換量が増えても、顕著なリパーゼの加水分解抑制効果は認められなかった。

#### 【0021】

##### 製造例 2

沃素価 84 のハイオレイックヒマワリ油 50 部と純度 98% のヘキサノ酸エチル 50 部を混合し、1, 3 位特異性のリパーゼ (Novozymes, Lipozyme RM-IM) を用いてエステル交換を行うことにより、反応油を得、220℃での蒸留によりエステル類を除去した後、さらに昇温して 258℃で純度 78% の 606 画分 15 部を得た。

#### 【0022】

##### 薬理試験 2

この得られた 606 画分を大豆油中 1 部 (606 純度約 0.8%)、5 部 (606 純度約



3.9%), 10部(606純度約7.8%), 50部(606純度約39%)それぞれ置換した系、及び606画分そのものの系(606純度78%)で先述の試験例と同様のリパーゼ活性測定を行った。表1に示されるように606を1部を置換した系で約15%、10部を置換した系で約25%活性が阻害されることが判明した。

【0023】

【表1】

大豆油に対する試験油脂の相対活性

薬理試験	油脂配合 (部)	相対活性 (%)
Control(大豆油)	100/0	100
薬理試験1 (大豆油/202)	99/1	78
	95/5	66
	90/10	67
	50/50	48
	0/100	11
比較薬理試験1 (大豆油/220)	99/1	101
	95/5	106
	90/10	111
	50/50	115
	0/100	108
比較薬理試験2 (大豆油/(220/202))	99/1	100
	95/5	89
	90/10	94
	50/50	113
	0/100	114
薬理試験2 (大豆油/606)	99/1	86
	95/5	91
	90/10	74
	50/50	68
	0/100	30

【0024】

マウスでの消化吸収試験

製造例1で得られた202画分を使用して約2ヶ月間のマウスでの消化吸収試験を行った。使用したマウスはC57BL/6Jで7週齢から1週間予備飼育後、食餌組成はAIN-93G組成を一部改良した表2の配合飼料にて大豆油群をコントロールにして各群6匹で約2ヶ月間飼育し、体重変化・飼料効率・体脂肪率の測定を行った。体脂肪率の測定は、実験マウス専用エックス線骨密度測定装置、PIXImus2(GE Medical Systems)を使用した。マウスでの56日間の消化吸収試験の結果、202画分を使用した群では体重で約10%、飼料効率で17%の低下が認められ、また体脂肪率では約14%の低下が認められ、脂肪の過剰摂取による肥満に202の微量添加が効果的であることが示唆された。これらの結果を表3に纏めた。

【0025】

【表 2】

食餌組成 (wt%)

組成	大豆油群	202 画分使用群
大豆油	10.0	10.0
202画分(製造例1)	—	0.5
Casein	20.0	20.0
Sucrose	10.0	10.0
$\beta$ -corn starch	36.75	36.25
$\alpha$ -corn starch	13.2	13.2
L-Cystine	0.3	0.3
cellulose powder	5.0	5.0
Min. mix (AIN-93G)	3.5	3.5
Vit. mix (AIN-93G)	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.25	0.25
Total weight	100.00	100.00

【0026】

【表 3】

飼育結果

		大豆油群	202 画分使用群
体重	飼育開始前	22.9 $\pm$ 0.5	22.8 $\pm$ 0.3
	56日飼育後	34.0 $\pm$ 1.2	30.7 $\pm$ 1.4
飼料効率	56日飼育後	0.074 $\pm$ 0.003	0.061 $\pm$ 0.002
体脂肪率	飼育開始前	20.2 $\pm$ 0.9	19.1 $\pm$ 0.9
	56日飼育後	40.5 $\pm$ 1.5	34.8 $\pm$ 2.5

【産業上の利用可能性】

【0027】

本発明により、リパーゼ活性を緩やかに阻害し、かつ油溶性であり、あらゆる食用油脂に添加でき、脂肪の過剰摂取による肥満や肥満が原因で発生する疾病の予防や治療に有効であるリパーゼ阻害剤、およびそれを含む油脂組成物を得ることが可能となったのである。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 本発明の目的は、脂肪の過剰摂取による肥満や肥満が原因で発生する疾病の予防や治療に寄与し得て、且つあらゆる油脂に添加し得る油溶性のリパーゼ阻害剤を提供することにある。

【解決手段】 本発明は、S L S型トリアシルグリセロール（Sは炭素数2～6の短鎖脂肪酸、Lは炭素数16～22の長鎖脂肪酸より構成される対称型トリアシルグリセロール）を有効成分とするリパーゼ阻害剤であり、脂質吸収阻害剤であり、抗肥満剤であり、または高脂血症改善剤であって、これらの剤を含有する食品であり、これらの剤を含有する医薬である。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 4 - 3 4 1 3 4 3
受付番号	5 0 4 0 2 0 1 3 2 4 6
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0 0 9 4
作成日	平成 1 6 年 1 2 月 1 日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成16年11月26日

特願 2 0 0 4 - 3 4 1 3 4 3

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 0 0 0 2 3 6 7 6 8 ]

1. 変更年月日

1 9 9 3 年 1 1 月 1 9 日

[変更理由]

住所変更

住 所

大阪府大阪市中央区西心斎橋 2 丁目 1 番 5 号

氏 名

不二製油株式会社